

Aus dem Physiologischen Institut
der
Johannes Gutenberg - Universität Mainz
Direktoren: Professor Dr. rer. nat. Dr. med. G. Thews
Professor Dr. med. R. von Baumgarten

Durchblutung und Glukoseverbrauch gewebsisolierter
Impftumoren (DS - Carcino - Sarkom) in vivo

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der

Johannes Gutenberg - Universität Mainz

vorgelegt von

Ute Krell, geb. Wendel
aus Bad Kreuznach

MAINZ 1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Physiologischen Institut
der
Johannes Gutenberg - Universität Mainz
Direktoren: Professor Dr. rer. nat. Dr. med. G. Thews
Professor Dr. med. R. von Baumgarten

Durchblutung und Glukoseverbrauch gewebsisolierter
Impftumoren (DS - Carcino - Sarkom) in vivo

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der

Johannes Gutenberg - Universität Mainz

vorgelegt von

Ute Krell, geb. Wendel
aus Bad Kreuznach

MAINZ 1972



Dekan: Professor Dr. med. med. A. Mayet
Referent: Professor Dr. rer. nat. Dr. med. G. Thews
Korreferent: Professor Dr. med. Dr. rer. nat. J. Grote

Tag der mündlichen Prüfung:

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	1
II. METHODIK	3
1) Züchtung des gewebsisolierten Impftumors	3
2) Messung des Glukoseverbrauchs der gewebsisolierten Impftumoren	5
III. ERGEBNISSE	7
1) Reine Tumoren	7
2) Teiltumoren	8
IV. DISKUSSION	9
V. ZUSAMMENFASSUNG	12
LITERATUR	

I. EINLEITUNG

Seit den grundlegenden Untersuchungen von WARBURG u. Mitarb. (1923 - 1926) über die Atmung und Glykolyse von Tumoren sind in der Folgezeit zahlreiche Stoffwechseluntersuchungen an tierischen und menschlichen Tumoren in vitro durchgeführt worden. Die wichtigsten Ergebnisse dieser Versuche lassen sich etwa folgendermaßen zusammenfassen (PÜTTER, 1966):

- 1) Tumorgewebe weist eine geringere Atmungsgröße (O_2 - Verbrauch durch oxydative Stoffwechselvorgänge) auf als andere Gewebe.
- 2) Tumorgewebe besitzt - verglichen mit den meisten Normalgeweben - eine relativ hohe anaerobe Glykolyserate, auch wachsendes Normalgewebe glykolyisiert relativ stark, aber nicht in dem Maße wie Tumoren.
- 3) In Anwesenheit von O_2 ist die Tumorglykolyserate kleiner als in Anoxie, aber immer noch in beträchtlichem Umfang vorhanden, normale wachsende und voll entwickelte Gewebe weisen dagegen praktisch keine aerobe Glykolyse auf.

In Tabelle 1 ist das Wesentliche der WARBURG'schen Auffassung an Hand von 3 repräsentativen Beispielen (entnommen aus WARBURG, 1956) für die 3 in Frage stehenden Gewebearten (ausgewachsenes Gewebe, normal wachsendes Gewebe und Tumorzellen) quantitativ wiedergegeben.

Entsprechende Untersuchungen an in situ gelegenen Tumoren waren bisher nur vereinzelt möglich. Messungen der Glukosekonzentration des Blutes vor und nach der Tumorpassage ergaben eine sehr hohe arteriovenöse Glukosedifferenz (WARBURG u. Mitarb., 1926, CORI u. CORI, 1925, SCHMIDT, 1970). Während SCHMIDT (Jensen Sarkom) mit einer Glukoseaufnahme von 49,5 - 69,3 mg/100 ml Blut das gleiche Ergebnis findet wie WARBURG (Jensen Sarkom) mit 70 mg/100 ml Blut, gibt CORI (Rous Sarkom) nur einen Wert von 23 mg/100 ml Blut an. Die Diskrepanz zwischen den Werten CORIs und dem Wert von WARBURG erklärt sich aus den unter-

Tab. 1: Beispiele für Stoffwechselquotienten von Rattengewebe in natürlichen Medien (vgl. WARBURG, 1956).

Q bezeichnet die pro mg Gewebe in einer Stunde freigesetzte Gasmenge in μl . Der obere Index charakterisiert die Versuchsbedingungen (N_2 = anaerob, O_2 = aerob). Der untere Index bezeichnet die gemessene (O_2) Sauerstoff- bzw. (M) Milchsäurebildung, letztere ausgedrückt in mm^3 freigesetztem CO_2 .

	Q_{O_2}	N_2 Q_M	O_2 Q_M
Leber	- 15	1	0
junges Embryonalgewebe	- 15	25	0
Asciteskrebszellen	- 7	60	30

schiedlichen Versuchsbedingungen: CORI und CORI bestimmten die Glukosekonzentration in den Axillarvenen von Hühnern, deren einer Flügel ein Rous-Sarkom trug, und fanden in 100 cm^3 Blut auf der Tumorseite im Mittel 23 mg Glukose weniger als auf der Normalseite.

WARBURG bestimmte bei den Versuchen über die Versorgung der Tumoren durch den Blutstrom wie CORI und CORI die Glukosekonzentration in den Tumorvenen. Abweichend von CORI und CORI verglich er nicht Tumorvenen und ähnlich liegende Venen des gesunden Gewebes, sondern Tumorvenen und Arterien. WARBURGS Meßwerte lagen höher, da er das Blut in unmittelbarer Nähe des Tumors aus der Vene entnahm und so eine Vermischung mit Venenblut nicht tumorösen Gewebes vermeiden konnte.

Eine Aussage über den tatsächlichen Glukoseverbrauch von Tumoren in vivo war mit der Bestimmung der AVD_{GI} allein nicht möglich. Erst als es GULLINO u. Mitarb. (1961) gelang, einen gewebisolierten Impftumor im Ovar der Ratte zu züchten, konnte man die Durchblutung und den Glukoseverbrauch von Tumorgewebe in vivo untersuchen (GULLINO u. Mitarb., 1967 b). Diese Technik bedeutet einen Fortschritt, weil man aus Untersuchungen in vitro weiß, daß die Geschwindigkeit der Glykolyse außer von der Temperatur, der H^+ - Ionenkonzentration und der Bicarbonatkonzentration im besonderen Maße vom Glukoseangebot der einzelnen Zelle abhängt. (WARBURG u. Mitarb., 1924). Um die Glukosekonzentration im Gewebe in Abhängigkeit vom Abstand der versorgenden Kapillare abschätzen zu können, benötigt man neben dem Glukoseverbrauch des Gewebes die übrigen versorgungsbestimmenden Parameter (THEWS, 1966). Die vorliegenden Messungen sollen unter anderem als Voraussetzung für solche Berechnungen dienen.

II. METHODIK

Als Versuchsmaterial dienten 15 Impftumoren eines DS - Carcinosarkoms in linken Rattennieren (Albino - Ratten, Sprague - Dawley, Stamm F. W. 49 Biberach). Die Tiere wogen zwischen 250 und 400 g und wurden unter den üblichen Laboratoriumsbedingungen gehalten (Altromin und H_2O ad libitum). Die Tumoren wurden gewebsisoliert gezüchtet (GULLINO u. Mitarb. 1961; SCHWARZ u. Mitarb., 1969) und waren über je ein zuführendes und abführendes Gefäß versorgt. Die folgenden methodischen Vorbemerkungen beziehen sich erstens auf die Weiterentwicklung der Impftechnik und zweitens auf die Durchführung des Versuchs, in dessen Verlauf der Glukoseverbrauch der Impftumoren bestimmt wurde.

1) Züchtung des gewebsisolierten Impftumors (Abb. 1)

Die Tumorzellen wurden im Ascites von Trägartieren des gleichen Stammes wie die Versuchstiere gezüchtet. Jeweils nach einer Zeitspanne von 4 Tagen wurde der Ascites dem Trägartier entnommen. Dieses sollte nicht schwerer als 100 - 150 g sein. Es zeigte sich nämlich, daß im Ascites älterer Tiere und solcher, denen der Ascites nach mehr als 4 Tagen entnommen wurde, bedeutend weniger Tumorzellen, bzw. mehr zerstörte Zellen vorhanden waren. In diesem Fall riskierte man die Bildung von Teiltumoren, deren Untersuchung nur im Vergleich mit Volltumoren sinnvoll erscheint.

Die Aufbewahrung des Ascites während der Präparation der Versuchstiere erfolgte im Eisbad. Durch mehrmaliges vorsichtiges Rühren des Ascites wurde ein Sedimentieren der Tumorzellen verhindert. Auf diese Weise konnte auch die Konzentration der überimpften Zellen konstant gehalten und außerdem ein Verklumpen oder Verkleben der Zellen an der Glaswand verhindert werden.

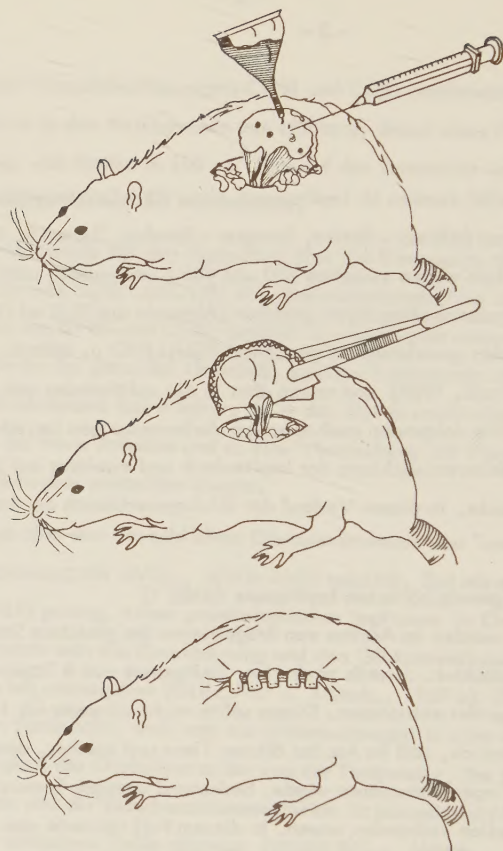


Abb. 1: Technik der Transplantation von Ascites - Tumorzellen.

- Oberes Bild: Die linke Niere wird freigelegt, die Tumorzellen werden injiziert und die Einstichstellen mit einem Wundkleber verschlossen.
- Mittleres Bild: Die Niere wird mit einem Parafilmbeutel umhüllt.
- Unteres Bild: Die Niere wird subcutan verlagert und die Wunde versorgt.

Die Präparation der Tiere wurde mit großer Sorgfalt durchgeführt. Sie wurden mit Inactin^R (60 - 80 mg/kg Körpergewicht) narkotisiert. Durch einen Lendenschnitt unterhalb des Rippenbogens wurde die linke Niere freigelegt und das perirenale Fettgewebe durch stumpfe Präparation von der Nierenkapsel gelöst. Die linke Niere wurde deshalb der rechten vorgezogen, weil sie durch ihren längeren Gefäßstiel besser zugänglich und beweglich ist. Es war darauf zu achten, daß die Niere nicht gestaut oder ihre Durchblutung durch Torsion des Gefäßstiels nicht gestört wurde. Eine Stauung führt immer zum Zurückfließen eines Teils der injizierten Tumorzellen und damit zu einer Verbreitung in die Umgebung der Niere. Gerade dies sollte jedoch vermieden werden.

Das Ziel der Überimpfung waren nämlich Tumoren, die das Nierengewebe vollständig ersetzt hatten und außerdem gewebsisoliert gewachsen waren. Um eine ganz von Tumorgewebe ersetzte Niere zu erhalten, wurden 10 - 15 mm³ unverdünnten tumorzellhaltigen Ascites an 4 - 7 Stellen in das Nierenparenchym injiziert. Ein mm³ des Ascites enthielt 60 000 - 120 000 Tumorzellen. Die Auszählung erfolge nach Art der Blutkörperchenzählung in einer Zählkammer. Nach SCHMÄHL (1955) reichen in jedem Fall 10 - 15 Zellen aus, um ein Geschwulst in der Niere zu erzeugen. Mit der von uns injizierten hohen Zellzahl (0,6 - 1,2 Millionen Tumorzellen pro Injektionsstelle) entstanden daher optimale Bedingungen für die Entwicklung einer vollständig durch Tumor ersetzten Niere.

Das zweite Problem, die gewebsisolierte Züchtung des Tumors, wurde dadurch gelöst, daß die präparierte Niere in einen Parafilmbeutel (Parafilm M-American Can Company Neenah Wisconsin) gehüllt und anschließend in eine weite subcutane Tasche verlagert wurde. Daneben verhinderte ein Wundkleber (Histoacryl^R, Braun Melsungen), der sofort nach der Injektion der Tumorzellen auf die Einstichstelle gegeben wurde, ein Zurückfließen und damit eine Verbreitung in die Umgebung.

Nach 9 - 13 Tagen hatte der sehr schnell wachsende Tumor das Nierengewebe vollständig zerstört und ein Mehrfaches des Gewichtes des Wirtsorganes Niere erreicht (Abb. 2). Deshalb erfolgte zu diesem Zeitpunkt die Bestimmung des Glukoseverbrauchs der Tumoren.

2) Messung des Glukoseverbrauchs der gewebsisolierten Impftumoren (Abb. 3). Die Tiere wurden mit Inactin^R (60 - 80 mg/kg Körpergewicht) intraperitoneal narkotisiert. Vom Beginn der Narkose und während der Präparation (ca. 30 min) wurde bis zum Ende des Versuchs die Körpertemperatur des Versuchstieres mit Hilfe eines thermostatisierbaren OP - Bettes auf 37,5° C konstant gehalten (WALDECK, 1969). Das ist deshalb von Bedeutung, weil schon bei Abkühlung auf 20° C die Glykolyse der Tumorzelle fast Null ist (WARBURG, 1926).

Zur Bestimmung der arteriellen Glukosekonzentration und zur direkten Blutdruckmessung mit Hilfe eines Statham-Elementes wurde die linke A. carotis durch einen Schnitt in der Supraclavicularregion freigelegt und mit einem liqueminierten PVC-Schlauch kanuliert. Nach Einbinden eines weiteren Katheders in die Tumorvene (ehemalige linke Nierenvene) wurde das tumorvenöse Blut druckkonstant über ein Bubble-Flowmeter mit einer Rollpumpe in die V. jugularis reinfundiert. Vorher erfolgte eine Temperierung des Blutes auf 37,5° C mit Hilfe einer thermostatisierten Heizschlange. Im Extrakorporalkreislauf befindliche Luftblasen eliminierte ein Windkessel. Tumorvenöse Blutproben konnten mittels eines T-Ansatzes direkt aus der Tumorvene entnommen werden. Um dem Versuchstier das zur Analyse entnommene Blut (aus der A. carotis und der Tumorvene je 0,1 ml) zu ersetzen, befand sich im Nebenschluß eine Infusionseinrichtung. Der Extrakorporalkreislauf wurde vor Versuchsbeginn mit Rattenblut gefüllt.

Die Bestimmung der arteriellen und tumorvenösen Glukosekonzentration erfolgte in jeweils 0,1 ml Vollblut nach dem enzymatischen Farbttest mit GOD/POD (Testansatz BOEHRINGER Mannheim; SCHMIDT, 1963, KESTON, 1956). Mit gleicher Versuchsanordnung wurden auch acht Teiltumoren untersucht, in denen noch

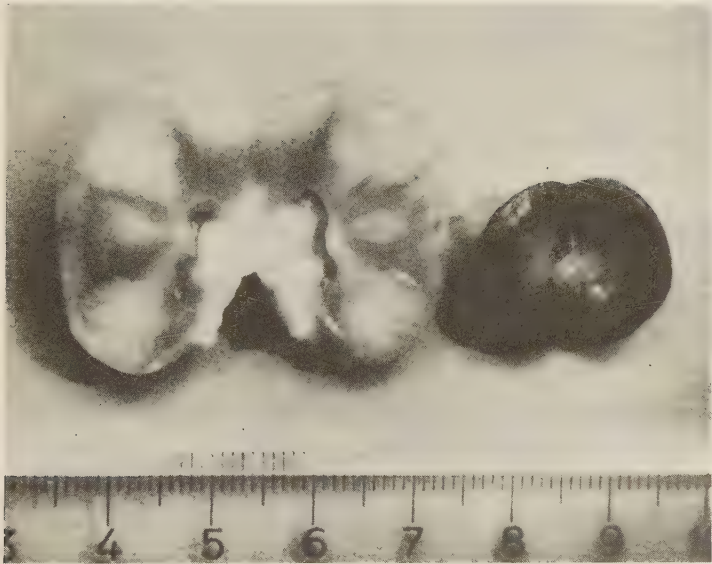


Abb. 2: Vergleich einer Rattenniere (rechts) mit einer vollständig durch Tumorgewebe ersetzt Niere eines Versuchstieres (nach SCHWARZ u. Mitarb., 1969).

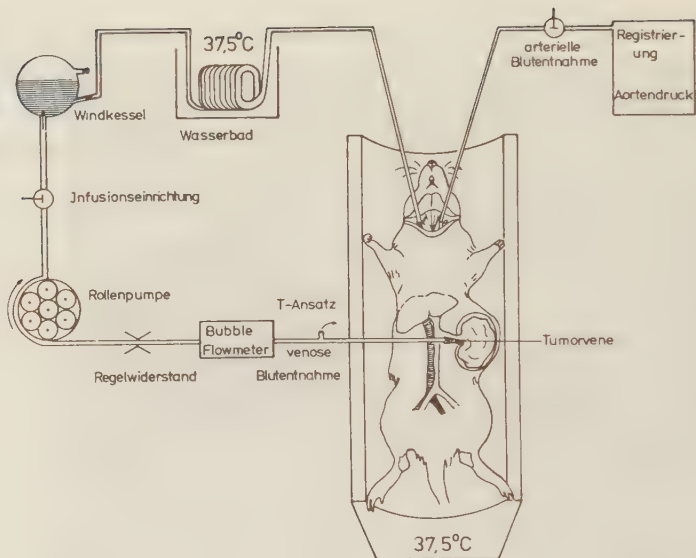


Abb. 3: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung.

Das aus der Tumorseite strömende Blut wird druckkonstant über ein Bubble-Flow-Meter mit einer Rollenpumpe in die Vena Jugularis reinfundiert. Eine Heizschlange dient zur Temperierung des Blutes. Luftblasen eliminiert ein Windkessel. Die zur Analyse entnommenen Blutmengen können über eine Infusionseinrichtung ersetzt werden. Zur direkten Blutdruckmessung mittels eines Statham-Elementes und zur Entnahme von art. Blutproben ist die Art. Carotis kanuliert. Ein geheizter Operationstisch hält die Temperatur des Tieres konstant.

schätzungsweise 2 - 5 % Nierengewebe enthalten war.

Bei den Tumorversuchen war auf folgende Punkte besonders zu achten:

- 1) Einen Tag vor der Operation mußte das betreffende Tier nüchtern bleiben, weil gefüllte Darmschlingen die Präparation unnötig erschweren, wenn nicht unmöglich machen.
- 2) Jeder Tumor war auf Nekrosen zu prüfen. Nur Blut von nicht nekrotischen Tumoren wurde analysiert.
- 3) Während der Dauer der Präparation und des Versuches war die Operationswunde mit körperwarmer physiologischer Kochsalzlösung vor dem Austrocknen zu bewahren.
- 4) Das Tumorvenenblut war tief dunkel. Floß nach dem Anschneiden der Vene helles Blut, oder pulsierte es beim Ausfließen, so hatte man mit der Vene eine der feinen Arterien angeschnitten, die oft, kaum sichtbar, neben den Venen oder unterhalb der Venen laufen. Solches Blut wurde nicht analysiert (WARBURG, 1926).
- 5) Um unnötigen Blutverlust zu vermeiden, waren alle Seitengefäße sorgfältig zu unterbinden.
- 6) Bevor die erste Blutabnahme erfolgte, wurde abgewartet, bis der Blutdruck einen konstanten Wert erreicht hatte, was in den ersten Minuten nach Anschließen der Apparatur noch nicht der Fall war. Wichen kurz hintereinander gemessene Blutdruckwerte weniger als 5 % ab, so konnte die erste Abnahme erfolgen.
- 7) Das entnommene Blut wurde sofort in eisgekühlte Perchlorsäure gegeben, um einen weiteren Ablauf der Glykolyse im Reagenzglas zu verhindern.
- 8) Die entnommene Blutmenge wurde nach erfolgter arterieller und venöser Blutabnahme wieder ersetzt und so der Blutdruck im Verlauf des ganzen Versuches konstant gehalten.

Abbildung 4 zeigt das ausgewertete Ergebnis einer typischen Untersuchung. Auf der Abszisse ist die Versuchszeit (t), auf der Ordinate sind von oben nach unten die Tumordurchblutung ($\dot{Q}$), die arterielle und venöse Glukosekonzentration (C_{G_I}) und der mit Hilfe der Durchblutung und der arteriovenösen Glukosedifferenz (AVD_{G_I}) berechnete Glukoseverbrauch des untersuchten Tumors aufgetragen.

ERGEBNISSE

I. Reine Tumoren: Unter 90 durchgeführten Versuchen fanden sich 15 einwandfreie reine Tumoren ohne nekrotisierte Bezirke. Gewicht, Durchblutung und Glukoseverbrauch sind zusammen mit der arteriellen und venösen Glukosekonzentration aus Tabelle 2 ersichtlich. Die Tumoren wogen zwischen 3,1 und 10,2 g bei einem mittleren Tumorgewicht von 6,5 g. Wie außerdem aus Abbildung 5 hervorgeht, handelt es sich bei den schweren Tumoren gleichzeitig um ältere. Dies kann als Maß für eine exakte Dosierung der überimpften Tumorzellen gewertet werden, wobei sicherlich die Immunitätslage des Tieres auch eine Rolle spielt. Die Durchblutung ($\dot{Q}$) schwankte zwischen 2,9 und 34,8 ml/100 g · min mit einem Mittelwert von 12,9 ml/100 g · min. Dabei zeigte sich, daß offenbar mit zunehmendem Tumorgewicht die Durchblutung abnimmt. So verringert sich beispielsweise bei einer Verdoppelung des Tumorgewichtes die Durchblutung um ca. 70 %. Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 6 graphisch dargestellt.

Wie weiterhin aus Tabelle 2 hervorgeht, lag der durchschnittliche Glukoseverbrauch bei 3,3 mg/100 g · min. Der geringste Glukoseverbrauch (0,9 mg/100 g · min) wurde bei dem am wenigsten durchbluteten Tumor gefunden (Tier Nr. 80) und der höchste Verbrauch (5,6 mg/100 g · min) bei einem der am besten durchbluteten Tumoren (Tier Nr. 63). Dieser eindeutige Zusammenhang zwischen Glukoseverbrauch und Durchblutung ist in den Abbildungen 7 und 8 graphisch dargestellt.

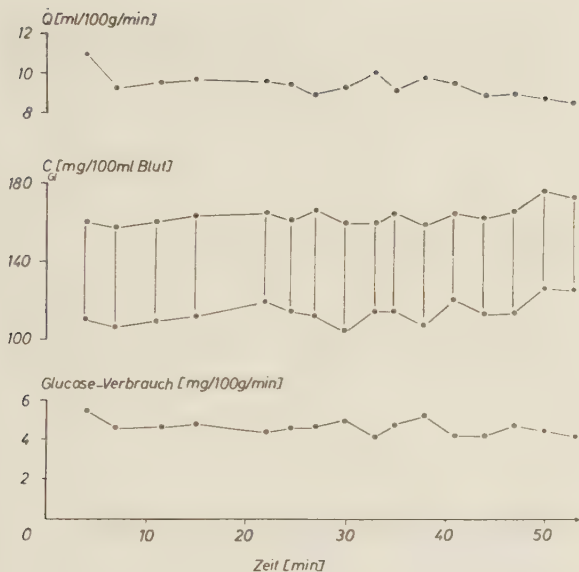


Abb. 4: Durchblutung und Glukoseverbrauch eines gewebsisolierten Impftumors.

Obere Kurve: Durchblutung ($\dot{Q}$)

Mittlere Kurve: Arterielle und tumorvenöse Glukosekonzentration (C_{Gl}). Der Abstand zwischen den Kurven ist ein Maß für die arterio-venöse Glukosedifferenz.

Untere Kurve: Glukoseverbrauch

Tab. 2: Tumorgewicht, Durchblutung ($\dot{Q}$), arterielle und tumorvenöse Glukosekonzentration (C_{Gl}) und Glukoseverbrauch von 15 gewebs-
isolierten Imptumoren. Durchblutung und Glukoseverbrauch sind mit der Standardabweichung des Mittelwertes angegeben. Für die
Berechnung der Standardabweichung der Mittelwerte in der unteren Spalte dienten die Mittelwerte der Einzelversuche.

Tier- Nr.	Geschlecht ♀ ♂	Alter [Tage]	Tumor- gewicht [g]	$\dot{Q}$ (ml/100 g · min)	$C_{Glukose}$ art. (mg%) ven. (mg%)	Glukosever- brauch (mg/100 g · min)	n
46	w	10	4,9	$20,4 \pm 1,3$	99,6	$3,3 \pm 0,8$	3
47	m	11	5,6	$12,1 \pm 0,6$	136,3	$2,3 \pm 0,02$	5
49	w	13	8,4	$5,7 \pm 0,4$	185,4	$3,6 \pm 0,2$	8
52	w	9	3,1	$34,8 \pm 0,3$	190,0	$4,9 \pm 0,5$	9
56	w	12	9,1	$5,0 \pm 0,3$	141,7	$1,9 \pm 0,2$	7
63	w	13	7,8	$28,1 \pm 2,3$	89,5	$5,6 \pm 0,4$	14
64	w	11	6,4	$14,0 \pm 0,6$	108,9	$2,4 \pm 0,02$	13
70	m	10	5,0	$8,0 \pm 0,3$	85,8	$2,3 \pm 0,1$	18
74	w	14	9,4	$4,2 \pm 0,2$	202,5	$2,8 \pm 0,2$	16
77	w	13	6,9	$11,9 \pm 0,1$	125,9	$2,8 \pm 0,3$	5
78	m	11	5,1	$21,1 \pm 0,9$	148,4	$5,5 \pm 0,3$	7
79	w	14	10,2	$7,6 \pm 0,3$	122,5	$3,0 \pm 0,2$	3
80	m	12	5,6	$2,9 \pm 0,1$	161,7	$0,9 \pm 0,05$	5
81	m	13	6,0	$8,4 \pm 0,1$	132,0	$4,7 \pm 0,2$	5
82	m	10	4,9	$10,5 \pm 0,9$	175,6	$3,7 \pm 0,3$	8
$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$			$6,5 \pm 0,5$	$12,9 \pm 2,3$	$140,3 \pm 9,3$	$3,3 \pm 0,3$	

Tumorgewicht (g)

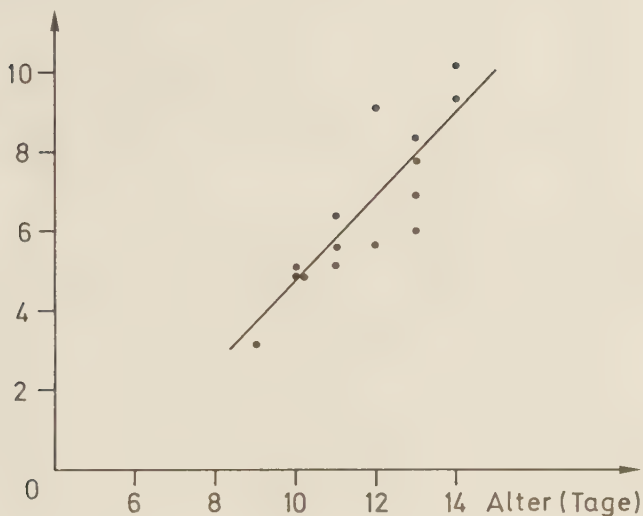


Abb. 5: Beziehung zwischen Alter und Tumorgewicht der 15 gewebsisolierten Impftumoren.

Der Altersmittelwert der Tumoren beträgt 11,73 Tage.

Der Mittelwert der Tumorgewichte beträgt 6,56 g. Damit wurde der Regressionskoeffizient von 1,065 berechnet.

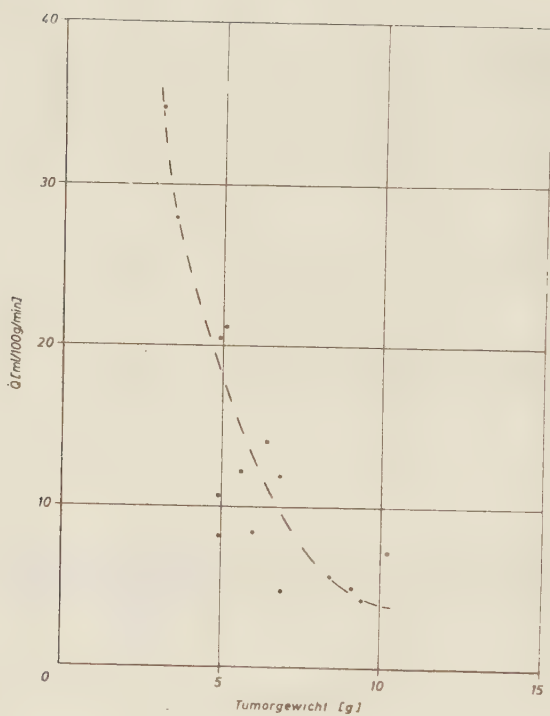


Abb. 6: Beziehung zwischen Durchblutung ($\dot{Q}$) und Tumorgewicht bei gewebisolierten Impftumoren.

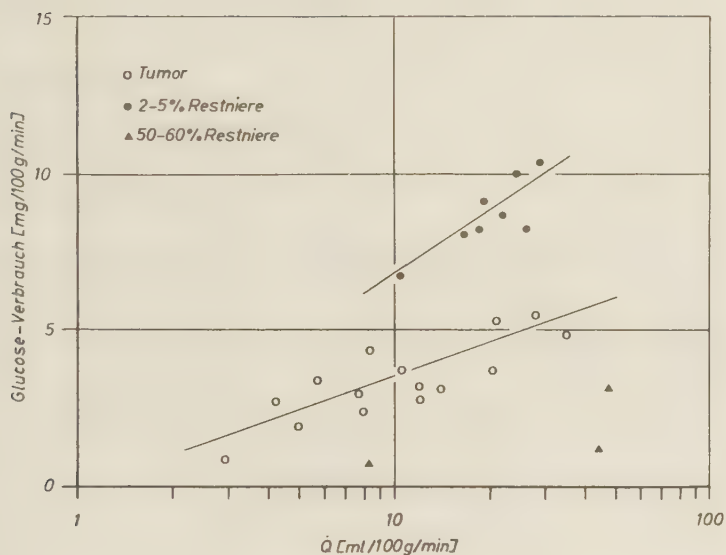


Abb. 7: Vergleich von Tumoren unterschiedlichen Entwicklungsgrades.

Glukoseverbrauch und Durchblutung von 15 reinen gewebsisolierten Impftumoren (Kreise), 8 Teiltumoren mit 2 - 5 % Restniere (Punkte) und 3 Teiltumoren mit mehr als 50 % Restniere in halblogarithmischer Darstellung.

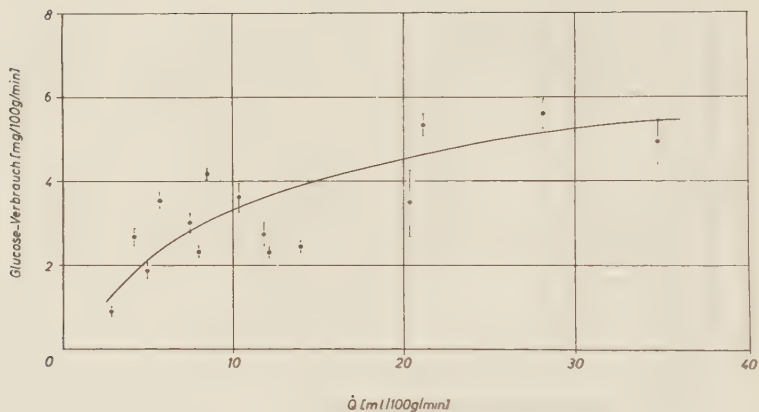


Abb. 8: Beziehung zwischen Glukoseverbrauch und Durchblutung bei gewebsisolierten Impftumoren.

Der Glukoseverbrauch (mit eingetragener Standardabweichung des Mittelwertes) ist bei weniger gut durchbluteten Tumoren am geringsten. Diese sind gleichzeitig die größten und ältesten.

Eine entscheidende Größe für die Berechnung des Glukoseverbrauches ist die arteriovenöse Glukosedifferenz, die nach RAPOPORT (1969) von folgenden Faktoren abhängig ist:

- 1) Vom Stoffwechsel des jeweiligen Organs
- 2) Vom Aktivitätszustand des Organs
- 3) Von der Durchblutungsgröße

Außer bei der Leber beobachtet man im allgemeinen eine durchschnittliche AVD_{GI} von ca. 5 - 10 mg %. Wie sich aus Tabelle 2 leicht berechnen läßt, liegt die AVD_{GI} bei großen Tumoren ungleich höher. So beträgt sie beispielsweise bei einem 9,1 g schweren Tumor 37,8 mg %, bei einem 10,2 g schweren 40,2 mg %. Im Mittel ergibt sich eine AVD_{GI} von 33 mg % mit einer Variationsbreite von 14,2 mg % - 64,4 mg %. Die durchschnittliche arterielle Glukosekonzentration lag mit 140 mg % - das entspricht einem Glukoseangebot von $18 \text{ mg}/100 \text{ g} \cdot \text{min}$ - deutlich oberhalb der Normgrenze. Die venöse Glukosekonzentration betrug im Mittel 107 mg %.

II. Teiltumoren: Die Tabellen 3 und 4 zeigen die Ergebnisse für Teiltumoren. Acht der untersuchten Tumoren enthielten noch schätzungsweise 2 - 5 % Restnierenanteile, bei drei Tumoren war noch mehr als 40 % des Nierenparenchyms erhalten geblieben. Gewicht, Durchblutung ($\dot{Q}$), arteriovenöse Glukosedifferenz (AVD_{GI}) und der Glukoseverbrauch dieser Teiltumoren sind in Tabelle 5 den entsprechenden Ergebnissen für reine Tumoren gegenübergestellt. Die Durchblutung war bei den Teiltumoren um den Faktor 1,9 (bei 2 - 5 % Restniere), bzw. den Faktor 2,7 (bei über 50 % Restniere) gegenüber der Durchblutung der reinen Tumoren vermehrt. Während der Glukoseverbrauch bei den Teiltumoren mit überwiegendem Tumoranteil (2 - 5 % Restniere) wesentlich größer war als bei den reinen Tumoren, findet sich bei den Tumoren mit überwiegendem Nierenanteil überraschenderweise ein wesentlich kleinerer Glukoseverbrauch von nur $1,7 \text{ mg}/100 \text{ g} \cdot \text{min}$.

Tab. 3: Tumorgewicht, Durchblutung, arterio-venöse Glukosedifferenz und Glukoseverbrauch von 8 gewebsisolierten Impftumoren mit einem Nierenanteil von 2 - 5 %. Durchblutung und Glukoseverbrauch sind mit der Standardabweichung des Mittelwertes angegeben.

Tier-Nr.	Geschlecht	Tumor-gewicht g	Tumor-alter Tage	$\dot{Q}$ ml/100g · min	AVD Gl mg %	Glukosever- brauch mg/100g · min	Nieren- anteil %	n
58	m	5,3	12	21,7 ± 0,94	39,1	8,6 ± 0,53	5	13
65	w	4,6	12	29,1 ± 2,04	37,4	10,5 ± 0,85	5	15
48	w	5,2	12	18,6 ± 0,15	43,8	8,1 ± 1,88	5	6
53	w	5,0	12	24,5 ± 1,35	43,5	10,1 ± 0,45	2-5	8
72	m	5,2	13	19,1 ± 0,33	48,6	9,3 ± 0,2	2-5	17
73	m	7,2	14	26,5 ± 0,99	30,7	8,0 ± 0,43	2-5	17
66	w	5,1	13	16,7 ± 0,15	48,3	8,1 ± 0,16	1-2	3
75	w	6,6	13	10,7 ± 0,22	63,0	6,8 ± 0,31	2-5	17
$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$		5,5 ± 0,31		20,9 ± 2,08	44,3 ± 4,04	8,7 ± 0,43		

Tab. 4: Tumorgewicht, Durchblutung, arterio-venöse Glukosedifferenz und Glukoseverbrauch von 3 gewebsisolierten

Impftumoren mit einem Nierenanteil von 30 – 50 %. Durchblutung und Glukoseverbrauch sind mit der Standardabweichung des Mittelwertes angegeben.

Tier-Nr.	Geschlecht	Tumorgewicht g	Tumor- alter Tage	$\dot{Q}$ ml/100 g · min	AVD _{Gl} mg %	Glukosever- brauch mg/100 g · min	Nierenanteil %	n
50	w	1,93	11	45,6 ± 0,79	2,7	4,23 ± 0,25	50	5
51	m	2,88	11	49,0 ± 1,86	6,2	3,26 ± 0,86	40	11
60	m	3,46	12	8,35 ± 0,5	9,1	0,68 ± 0,2	30	3
$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$		2,8 ± 0,45		34,3 ± 13,0	6,0 ± 3,2	2,7 ± 1,06		

Tab. 5: Vergleich von Tumoren unterschiedlichen Entwicklungsgrades. Gewicht, Durchblutung ($\dot{Q}$), arterio-venöse Glukosedifferenz (AVD_{GI}) und Glukoseverbrauch von reinen Impftumoren sowie Teiltumoren mit 2 - 5 % bzw. 30 - 50 % Restniere.

	Tumor- gewicht g	$\dot{Q}$ ml/100 g · min	AVD_{GI} mg %	Glukose- verbrauch mg/100g · min	Zahl der Tumoren	n
Reine Tumoren	$6,5 \pm 0,5$	$12,9 \pm 2,3$	33,0	$3,3 \pm 0,3$	15	126
Tumoren mit 2-5% Restniere	$5,5 \pm 0,3$	$20,9 \pm 2,1$	44,3	$8,7 \pm 0,43$	8	96
Tumoren mit 40-50% Rest- niere	$2,8 \pm 0,5$	$34,3 \pm 13,0$	6,0	$2,7 \pm 1,06$	3	19

IV. DISKUSSION

Die Tumorzelle ist in der Lage, nicht nur durch oxydativen Abbau der Glukose, sondern auch durch deren glykolytische Spaltung Energie zu gewinnen. Dabei führte die offensichtliche Beziehung zwischen Durchblutung und Tumorgewicht häufig zu der Meinung, daß die hohe Glykolyserate sich erst sekundär im Laufe des Tumorzustands als Ausdruck der Anpassung an die verminderte Durchblutung einstelle. Dagegen vertritt MURAMATSU (1961) die Auffassung, daß es zu einem abrupten irreversiblen Auftreten der tumorspezifischen, biochemischen Veränderungen kommt, die mit gewissen, bei der chemischen Cancerogenese plötzlich einsetzenden morphologischen Veränderungen übereinstimmen (MURAMATSU, 1961).

Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, daß das von uns untersuchte DS - Carcinosarkom sehr wenig Sauerstoff verbraucht (0,5 ml Sauerstoff / 100 g · min, SCHWARZ u. Mitarb. 1969). Der Glukoseverbrauch ist verglichen mit dem nicht pathologischen Gewebe relativ hoch. So nimmt beim Menschen das Gehirn als stoffwechselaktivstes Organ durchschnittlich 5,5 mg Glukose / 100 g · min auf JEAN (1966).

GULLINO u. Mitarb. (1967 b) untersuchten ebenfalls in vivo den Glukoseverbrauch von 3 verschiedenartigen gewebsisolierten Impftumoren (WALKER Carcinom 256, Hepatom 5123 und Fibrosarkom 4956) im Ovar der Ratte. Sie fanden dabei einen Glukoseverbrauch von 37,5 - 80 mg/100 g Tumor · min. Diese Werte liegen wesentlich höher als der von uns gemessene Glukoseverbrauch beim DS - Carcinosarkom. Drei Ursachen könnten für diesen Unterschied maßgebend sein:

- 1) Der unterschiedliche Glukoseverbrauch ist ein biologisches Merkmal der untersuchten verschiedenartigen Tumoren.
- 2) Bei der Bestimmung der Tumordurchblutung besteht zwischen dem Untersuchungsverfahren von GULLINO und dem unsrigen möglicherweise ein bedeutsamer methodischer Unterschied. GULLINO saugte das in der Tumornebene befindliche Blut mit einer Spritze über eine eingestochene Kanüle (Nr. 20) während eines

bestimmten Zeitraumes ab. Dabei besteht die Möglichkeit, daß Blut aus der sehr gut durchbluteten vena renalis, in welche die Tumorne mündet, aspiriert wird, und dadurch die Durchblutung, und somit auch der Glukoseverbrauch von GULLINO zu hoch ermittelt werden. Bei der von uns angewandten Versuchsanordnung dagegen wird die Tumordurchblutung fortlaufend mit einem Bubble - Flowmeter gemessen.

- 3) Bei GULLINO wird das später zur chemischen Analyse benötigte körperwarme Blut des Versuchstieres während der gesamten Meßperiode (0,5 - 2,0 min, GULLINO u. Mitar., 1967 a) bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Glukose und Lactatkonzentrationen können unter diesen Umständen erhebliche Veränderungen erfahren (BERGMEYER, 1962). Bei den vorliegenden Messungen wurde das zur Analyse vorgesehene Blut sofort zur Enteiweißung in eisgekühlte Perchlorsäure überführt.

Während GULLINO u. Mitarb. (1967 b) den in vitro gemessenen sehr hohen Glukoseverbrauch von malignem Tumorgewebe (AISENBERG, 1961) in vivo größenordnungsmäßig bestätigen konnten, stellte sich für uns die Frage, warum das DS - Carcinosarkom relativ wenig Glukose verbraucht. Entweder benötigt das DS - Carcinosarkom nicht mehr Glukose, oder es wird der Tumorzelle, die größere Mengen Glukose umsetzen könnte, nicht genügend Glukose angeboten. Ähnliche Ergebnisse deutete WARBURG folgendermaßen: Es besteht am venösen Ende der Kapillare eine weitaus geringere Glukosekonzentration als auf der arteriellen Seite. Deshalb kann die Tumorzelle auf der venösen Seite in der gleichen Zeiteinheit weniger vergären als die Tumorzelle, die an der Eintrittsstelle der Kapillare liegt. Die Gärung im Tumor nimmt also in der Richtung des kapillaren Blutstromes ab (WARBURG, 1926). Daraus läßt sich ohne weiteres voraussehen, daß man bei einer Steigerung des arteriellen Glukoseangebotes eine maximale Tumorgärung erreichen müßte. Dabei müßte das Angebot vermutlich sehr hoch liegen. Schon die eingangs erwähnten Untersuchungen von WARBURG u. Mitarb. (1926) an einem transplantierten Flexner - Joblingschen Rattencarcinom zeigten, daß Tumorgewebe in vivo offenbar sehr viel schlechter mit Glukose versorgt

ist als gesundes Gewebe. Untersucht man die Bedingungen des Glukosetransportes aus dem Kapillarblut zu den Orten des Verbrauchs im Gewebe, so findet man eine Reihe von Teilprozessen, die hierbei Bedeutung haben (THEWS, 1966):

- 1) Die freie Diffusion im Blutplasma, im extrazellulären Raum und im Cytoplasma,
- 2) die beschränkte Diffusion in porösen Kapillarwänden und
- 3) chemische Transportprozesse in den Zellmembranen.

Diese genannten Teilprozesse sind vom arteriellen Glukoseangebot und von der Verbrauchsgröße des Tumors abhängig. Das arterielle Glukoseangebot lag bei den von uns untersuchten Tumoren bei durchschnittlich $18 \text{ mg}/100 \text{ g} \cdot \text{min}$. Das ist verglichen mit der Niere ($460 \text{ mg}/100 \text{ g} \cdot \text{min}$) ein sehr niedriger Wert. Allein diese Angabe zeigt schon, wie ungenügend die Tumorzellen mit Glukose versorgt werden.

Die Glukosekonzentration im Gewebe ist zusätzlich vom Abstand der versorgenden Kapillare abhängig. Es hat sich gezeigt, daß die Kapillaren mit dem sehr schnellen Wachstum des Tumors (in 10 - 12 Tagen 5 - 8 faches Gewicht des Gastorgans "Niere") nicht Schritt halten und die Kapillarabstände in dem von uns untersuchten Tumor sehr groß sind (AUMÜLLER u. Mitarb., 1971). Je größer der Kapillarabstand, desto geringer wird die Glukosekonzentration in der am weitesten von der Kapillare entfernt gelegenen Tumorzelle sein. Dementsprechend sinkt auch mit zunehmendem Abstand von der Kapillare die Aktivität Glukose verbrauchender Stoffwechselvorgänge und damit der Glukoseverbrauch des untersuchten Tumors. Die hohe tumorvenöse Glukosekonzentration ($107 \text{ mg} \%$) zeigt, daß durchschnittlich $14 \text{ mg Glukose}/100 \text{ g} \cdot \text{min}$ den Tumor wieder verlassen. Die für die Größe des Teilchenstroms von der Kapillare zum Ort des Verbrauchs unter anderen maßgebende kapilläre Glukosekonzentration dürfte demnach - auch am Ende der Kapillare - keine Ursache für die Limitierung des Glukosetransportes sein. Messungen der Glukosekonzentration in der intersitiellen Flüssigkeit von Tumoren dagegen ergaben sehr niedrige Werte (GULLINO u. Mitarb., 1967 b). Es erscheint demnach die Annahme berechtigt, daß möglicherweise die Verlängerung der Diffusionsstrecken und der damit gekoppelte starke extrakapilläre Konzentrationsabfall für den geringen Glukoseverbrauch des DS - Carcinosarkoms mitverantwortlich sind.

Vergleicht man gleichartige Tumoren unterschiedlichen Entwicklungsgrades miteinander, dann findet diese Annahme eine zusätzliche Stütze. In der Abbildung 7 sind Glukoseverbrauch und Durchblutung von 15 reinen Tumoren und von 8 Teiltumoren eingezeichnet. Die bezüglich des Wachstums noch nicht so fortgeschrittenen Teiltumoren haben einen deutlich höheren Glukoseverbrauch als die reinen Tumoren. Das erscheint verständlich unter der Annahme, daß das im Wachstum noch nicht so fortgeschrittene Tumorgewebe der Teiltumoren über das sehr engmaschige Kapillarsystem des Wirtsorgans "Niere" verfügt und daher gut durchblutet und gut mit Glukose versorgt ist. Überwiegt in den Teiltumoren das Nierengewebe, so müssen bei dem bilanzmäßig bestimmten Glukoseverbrauch eines solchen Teiltumors die Glukose verbrauchenden Eigenschaften des Nierenparenchyms bestimmend werden. Da reines Nierengewebe eher zur Glukonegenese neigt, (SÖLING u. SCHMIDT, 1960) muß der Glukoseverbrauch bei unserem Tumormodell mit zunehmendem Nierenanteil abnehmen. Dieses Verhalten konnte bei drei Teiltumoren, die mehr als 40 % Nierengewebe enthielten, der Tendenz nach nachgewiesen werden (Abbildung 7).

V. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der Untersuchungen war es, den Zusammenhang zwischen Durchblutung, Alter und Glukoseverbrauch gewebsisolierter Impftumoren (DS - Carcinosarkom) in vivo zu analysieren. Bei 15 reinen Tumoren und 11 Teiltumoren (Restnierenanteil 2 - 5 % bzw. 40 - 50 %) in Rattennieren als Wirtsorgan wurden die genannten Parameter bestimmt. Nach einer von GULLINO u. Mitarb. (1961) angegebenen Methode konnten Impftumoren gewebsisoliert gezüchtet werden. Die Bestimmung des Glukoseverbrauchs und der Durchblutung erfolgte 9 - 13 Tage nach der Tumorüberimpfung. Bei einer mittleren Tumordurchblutung von 12,9 ml/100 g • min (Schwankungsbreite: 2,9-34,8 ml/100 g • min) und einem mittleren Tumorgewicht von 6,5 g (3,1 - 10,2 g) lag der durchschnittliche Glukoseverbrauch bei 3,3 mg/100 g • min

(0,9 - 5,6 mg/100 g • min). Mit zunehmendem Tumorgewicht fand sich eine abnehmende Durchblutung und ein geringerer Glukoseverbrauch. Wegen der hohen mittleren tumorvenösen Glukosekonzentration (107 mg %) scheint die Annahme berechtigt, daß durch große Kapillarabstände die Diffusionsstrecken für Glukose im Gewebe sehr groß sind. Weit von der versorgenden Kapillare gelegene Tumorzellen kommen dadurch in den Bereich sehr kleiner Glukosekonzentrationen. Da die Phosphorylierungsrate von der intrazellulären Glukosekonzentration abhängig ist, läßt sich auf diese Weise der geringe Glukoseverbrauch zwanglos deuten.

LITERATUR

AISENBERG, A. C.: The glycolysis and respiration of tumors

Academic Press, New York, 1961

AUMÜLLER, G., P. VAUPEL und H. GÜNTHER: Etude morphologique sur la vascularisation de tumeurs renales implantées chez le rat

56^{me} congrès de l'association des Anatomistes, Nantes 1971

BERGMEYER, H. U.: Methoden der enzymatischen Analyse

Verlag Chemie, Weinheim, 1962

BIERICH, R. und A. ROSENBOHM: Über den Milchsäuregehalt von normalen und von Krebsgeweben

Zschr. physiol. Chem. 214, 271 - 280 (1933)

CORI, C. F., and G. T. CORI: The carbohydrate metabolism of tumors

II. Changes in the sugar, lactic acid and CO_2 - Combining power of blood passing through a tumor

J. Biol. Chem. 65, 397 - 405 (1925)

GRAFF, S., H. MOSER, O. KASTNER: The significance of glycolysis

J. Nat. Cancer Inst. 34, 511 - 519 (1965)

GULLINO, P. M. and F. H. GRANTHAM: Studies on the exchange of fluids between host and tumor

I. A method for growing "tissue - isolated" tumors in laboratory animals

J. Nat. Cancer Inst. 27, 679 - 693 (1961)

GULLINO, P. M., F. H. GRANTHAM and A. H. COURTNEY: Utilisation of oxygen by transplanted tumors in vivo

Cancer Res. 27, 1020 - 1030 (1967 a)

GULLINO, P. M., F. H. GRANTHAM and A. H. COURTNEY: Glucose consumption by transplanted tumors in vivo

Cancer Res. 27, 1031 - 1040 (1967 b)

- JEAN, R.: Der cerebrale Glucosestoffwechsel und seine Störungen.
In: D-Glucose und verwandte Verbindungen in Medizin und Biologie
Hrsg. v. Bartelheimer, Heyde und Thorn, Stuttgart, Enke, 1966, 851 - 878
- KERSTEN, M., R. WÖRZ und U. WENDEL: Glucoseverbrauch von gewebsisolierten
Impftumoren
Pflügers Arch. 316, R 4 (1970)
- MARAMATSU, M.: Studies on the pyruvate metabolism during hepatocarcinogenesis
in vivo metabolism of pyruvate-2-C14 in the liver of 3 -Me-DAB fed rats
Gann 52, 135 - 148 (1961)
- NIGAM, V. N.: A studie of the Crabtree effect in Novikoff ascites hepatoma cells
Biochem. J. 99, 412 - 418 (1966)
- NORMAN, T. D. and H. B. SMITH: The blood lactic acid of tumor bearing and tumor-
free mice
Cancer Res. 16, 1027 - 1031 (1956)
- PÜTTER, J.: Der Glucosestoffwechsel bei bösartigen Tumoren
In: D-Glucose und verwandte Verbindungen in Medizin und Biologie
Hrsg. v. Bartelheimer, Heyde und Thorn, Stuttgart, Enke, 1966, 988 - 1034
- RAPOPORT, S. M.: Medizinische Biochemie. Berlin VEB 1969
- SCHMÄHL, D. und R. MECKE jr.: Quantitative Transplantationsversuche mit dem
Yoshida-Ascites Sarkom der Ratte
Z. Krebsforsch. 60, 711 - 729 (1955)
- SCHMIDT, C. G.: Kanzerostatischer Effekt alkylierender Verbindungen in Beziehung
zur Glycolyse in Tumorzellen in vivo
Z. Krebsforsch. 73, 223 - 238 (1970)
- SCHWARZ, W., V. SCHULZ, M. KERSTEN und R. WÖRZ: Untersuchungen der
Durchblutung und des Sauerstoffverbrauches gewebsisolierter Impftumoren in
Rattennieren
Pflügers Arch. 312, R 64 (1969)

- SÖLING, H. D. und D. SCHMIDT: Vergleichende Untersuchungen des Sauerstoffverbrauchs und der Bearbeitung von Glucose, Milchsäure und Brenztraubensäure im Stoffwechsel der Hundeniere
Arch. exp. Path. und Pharmac. 240, 140 – 156 (1966)
- THEWS, G.: Diffusion und Permeation
In: D-Glucose und verwandte Verbindungen in Medizin und Biologie
Hrsg. v. Bartelheimer, Heyde und Thorn, Stuttgart, Enke, 1966, 250–276
- VAUPEL, P., H. GÜNTHER, J. GROTE und G. AUMÜLLER: Atemgaswechsel und Glucosestoffwechsel von Tumoren (DS-Carcinosarkom) in vivo.
Experimentelle Untersuchungen der versorgungsbestimmenden Parameter
Zschr. ges. exp. Med. Biol. (im Druck)
- WALDECK, F.: Ein heizbarer Operationstisch mit Regelvorrichtung zur Konstantanhaltung der Körpertemperatur narkotisierter Kleintiere
Pflügers Arch. 310, 189 – 192 (1969)
- WARBURG, O., K. POSENER und E. NEGELEIN: Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle
Biochem. Z. 152, 309 – 344 (1924)
- WARBURG, O., F. WIND und E. NEGELEIN: Über den Stoffwechsel von Tumoren im Körper
Klin. Wschr. 5, 829 – 832 (1926)
- WARBURG, O.: Über die Entstehung der Krebszellen
Oncologica 9, 75 – 83 (1956)
- WARBURG, O.: On origin of cancer cells
Science 123, 309 – 314 (1956)

Herrn Professor Dr. Dr. G. Thews danke ich für die Überlassung des
Themas dieser Arbeit und die Erlaubnis, die vorliegenden Versuche
am Physiologischen Institut der Universität durchführen zu dürfen.

Herrn Dr. M. Kersten und Herrn Dr. P. Vaupel danke ich für die Unter-
stützung bei dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 9. Juli 1947 wurde ich, Ute Krell geb. Wendel, als Tochter des Oberstudiendirektors Hans Wendel und seiner Ehefrau Johanna Wendel, geb. Seiler, in Bad Kreuznach geboren. 1954 wurde ich in die erste Klasse der Volksschule in Bingen eingeschult. 1958 besuchte ich nach bestandener Aufnahmeprüfung die Hildegardisschule in Bingen. 1966 bestand ich dort die Reifeprüfung und immatrikulierte mich für das Studium der Medizin an der Johannes Gutenberg - Universität in Mainz. Am 2. April 1969 bestand ich die ärztliche Vorprüfung.

